

OCORRÊNCIA DE BACTÉRIAS DIAZOTRÓFICAS E DE FUNGOS MVA NA CULTURA DA MANDIOCA (*MANIHOT ESCULENTA* CRANTZ)M.Kanashiro (1); E.L.Balota (2); M.Hungria (3) & J.Dobereiner (4)

- 1 Estudante de Agronomia da UFRRJ, Itaguaí, Rio de Janeiro
- 2 Pesquisador do IAPAR, Londrina, Paraná, Bolsista do CNPq
- 3 Pesquisadora da EMBRAPA-CNPSo, Londrina, Paraná
- 4 Pesquisadora da EMBRAPA-CNPBS, Itaguaí, Rio de Janeiro

Apesar de ser considerada uma cultura com adaptabilidade a solos pobres, a mandioca apresenta alto requerimento de nutrientes como N e P, além do fato da cultura não responder de maneira consistente à aplicação crescente de N. Esta versatilidade da cultura poderia ser explicada, pelo menos em parte, pelas associações de raízes de plantas e microrganismos de solo (fungos MVA, rizobactérias diazotróficas ou fixadoras de  $N_2$ -FBN e/ou promotoras do crescimento de plantas-RPCPs). Com relação aos fungos MVA, a cultura é considerada altamente dependente da associação, o que poderia explicar como tem sua demanda de P satisfeita. Estudos sobre a associação com outros microrganismos de solo praticamente não tem sido desenvolvidos, apesar de sua importância ter sido salientada várias vezes em conclusões de diversos simpósios e congressos.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a ocorrência, identificar e isolar bactérias diazotróficas e fungos MVA associados a cultura da mandioca.

Preliminarmente ao levantamento de ocorrência, foi realizado um trabalho objetivando observar qual grupo de bactérias diazotróficas predominava na cultura. Para tanto, foram coletadas amostras de solo da rizosfera, raízes, tubérculos, manivas e folhas de duas culturas no CNPBS-EMBRAPA, Itaguaí, RJ. Amostras de tecido vegetal e do solo da rizosfera foram submetidas a diluições sucessivas nas concentrações de  $10^{-2}$  a  $10^{-6}$ . Destas diluições, 0,1 ml foram inoculados em frascos com os seguintes meios semi-sólidos e isentos de N: LGI-P, NFB-glucose, NFB-malato, NFB-modificado (glucose, citrato e oxalato), JNFB e NFB-amido, em três repetições. Os frascos foram incubados por 5 dias a 28°C avaliando-se posteriormente as características de crescimento.

Os resultados deste levantamento preliminar mostraram a presença de bactérias diazotróficas em todas as partes amostradas, exceto nas folhas. Os meios que apresentaram melhores resultados foram o LGI-P, NFB-malato e NFB-Modificado. O meio LGI-P mostrou-se apropriado para avaliação de microrganismos diazotróficos do gênero *Klebsiella* nas condições estudadas, uma vez que em nenhuma das amostras foi observado crescimento de *Acetobacter diazotrophicus*.

No levantamento, foram coletadas amostras de solo da rizosfera, raízes, tubérculos, manivas e folhas em 5 localidades do estado do Rio de Janeiro, 4 do Paraná e 2 de São Paulo. Cada amostra foi coletada em 5 plantas, com 4 repetições. A avaliação foi procedida através da diluição seriada, como descrita anteriormente, sendo inoculado 0,1 ml nos seguintes meios semi-sólidos e isentos de N: LGI-P, NFB-malato e NFB-Modificado, em três repetições.

A quantificação das bactérias foi feita através da técnica do Número Mais Provável (NMP). Os frascos da última diluição com crescimento positivo tiveram sua capacidade de fixação de  $N_2$  avaliada através da técnica de atividade de redução de acetileno (ARA). Em seguida os isolados foram submetidos ao processo de purificação. A população micorrizica VA foi avaliada através do número de esporos e da % de raízes colonizadas.

Bactérias diazotróficas foram isoladas de todas as partes da planta, com exceção das folhas, em todas as localidades amostradas, sendo identificadas como *Klebsiella* sp., *Azospirillum lipoferum* e uma bactéria ainda em fase de identificação, denominada preliminarmente como Bactéria E. A Bactéria E apresenta crescimento lento com película difusa subindo até o 6º dia, e com fixação de  $N_2$  até o 18º dia em meio semi-sólido. As colônias apresentam características diferentes das outras bactérias diazotróficas, nos diferentes meios testados.

Os dados mostraram a ocorrência generalizada de *Klebsiella* sp, *A. lipoferum* e Bactéria E em todas as localidades, não sendo observadas diferenças significativas em função das características químicas do solo, como solos de baixa fertilidade (Planossolo e PVA) ou de alta fertilidade (Orgânico e LRd). Variações acentuadas não foram observadas em função dos cultivares Vassourinha e Saracura no Rio de Janeiro, Fibra no Paraná e Branca de Santa Catarina em São Paulo.

De um modo geral, os números de *Klebsiella* sp. e *A. lipoferum* foram ligeiramente superiores aos da Bactéria E. O número elevado de bactérias diazotróficas associadas à maniva sugere a potencialidade da transmissão de microrganismos através do tecido vegetal, confirmando observações anteriores feitas por outros autores para a cana-de-açúcar e para a batata-doce. O número de microrganismos diazotróficos presentes no interior do tubérculo da mandioca, foi inferior ao observado em outras partes da planta, ao contrário do observado para a cana-de-açúcar e a batata-doce, onde o número de microrganismos diazotróficos foi relacionado ao maior teor de açúcar do tecido vegetal (glucose ou amido). A utilização do meio NFb-modificado, com 0,5% de caldo de tubérculo de mandioca, não apresentou melhor eficiência do que o meio NFb-Modificado comum. Vários testes constataram que os isolados obtidos não possuem a capacidade de utilizar o amido como fonte de carbono.

Até o momento foram obtidos 38 isolados de *Klebsiella* sp., 79 de *A. lipoferum* e 37 de Bactéria E, das diferentes partes da planta. Trabalhos vêm sendo desenvolvidos no sentido de identificar a Bactéria E, bem como avaliar a capacidade destes isolados em produzir substâncias promotoras do crescimento de plantas.

Com relação aos fungos MVA, houve ocorrência de um número variado de espécies com predominância de *Entrophospora colombiana* e *Acaulospora scrobiculata* no estado do Rio de Janeiro, *A. scrobiculata* e *Scutellospora heterogama* no estado do Paraná e em Piracicaba e *A. appendicula* e *S. pellucida* em Campinas.